Prof. Dr. Carl Schmidt 1892

Lane Medical Library

Ueber den unlöslichen Grundstoff der Lymphdrüsen- und Leberzelle.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades

eines

Doctors der Medicin

verfasst und mit Bewilligung

Einer Hochverordneten Medicinischen Facultät der Kaiserlichen Universität

zu Dorpat

zur öffentlichen Vertheidigung bestimmt

von

Adam Knüpffer.

Ordentliche Opponenten:

Privatdocent Dr. **F. Krüger.** — Prof. Dr. **C. Dehio.** — Prof. Dr. **A. Schmidt.**

Dorpat.

Schnakenburg's Buchdruckerei.

1890.

Montag

Frau 4/16 Februar 1891

Zur feierlichen

DOCTOR-PROMOTION

des Herrn

Adam Knüpffer,

welche

Montag, den 4. Februar 1891, ½11 Uhr Vormittags

im grossen Hörsaale der Kaiserlichen Universität

stattfinden wird,

laden ergebenst ein

Dorpat,
den 31. Januar 1891.

Decan und **Mitglieder**
der medicinischen Facultät.

Druck von Schnakenburg

Gedruckt mit Genehmigung der Medicinischen Facultät.
Referent: Professor Dr. A. Schmidt.
Dorpat, den 28. Januar 1891.
No. 54.
Decan: **Dragendorff.**

Meinen Eltern

GEWIDMET.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154018_0044

Herr Prof. Dr. A. Schmidt war so freundlich, mir das Thema zu vorliegender Arbeit zu geben und mich bei Abfassung derselben aufs Liebenswürdigste mit Rath und That zu unterstützen. Ich bitte ihn an dieser Stelle meinen aufrichtigen Dank dafür entgegennehmen zu wollen.

Ebenso bin ich Herrn Prof. Dr. G. Dragendorff, in dessen Institut ich meine Elementaranalysen zum Theil ausgeführt habe, sowie Herrn Privatdocenten Dr. F. Krüger zu Dank verpflichtet für vielfache Belehrung und für das Interesse, das sie an meiner Arbeit gezeigt haben.

Im Mai vorigen Jahres veröffentlichte W. Demme[1]) seine Untersuchungen über einen aus den Zellen verschiedener Organe darstellbaren Körper — das Cytoglobin. Er behandelte die vom Serum getrennten Zellen mit Alcohol, entzog ihnen auf diese Weise die in demselben löslichen Stoffe und extrahirte darauf mit Wasser den von ihm beschriebenen Zellenbestandtheil. Den in Wasser unlöslichen Rest hat er nicht weiter berücksichtigt. Diesen einer näheren Untersuchung zu unterziehen ist die Aufgabe, die ich mir gestellt habe.

Bevor ich mich jedoch mit meinem Thema beschäftige, möchte ich mir erlauben, einige Puncte in der Demme'schen Arbeit zu berühren, die mir einer Ergänzung resp. Berichtigung zu bedürfen scheinen.

In seiner Characteristik des Cytoglobin spricht Demme von den Veränderungen, die eine Lösung dieses Körpers durch das Kochen erleidet, ohne jedoch anzugeben, bei welcher Temperatur die ersten Veränderungen auftreten. Es schien deshalb nicht ohne Interesse, darüber Versuche anzustellen, wozu wässrige

---

1) W. Demme. Ueber einen neuen Eiweiss liefernden Bestandtheil des Protoplasma. Inaug. Dissertat., Dorpat 1890.

Lösungen von 0,14% Cytoglobingehalt, sowohl des aus der Leber, als auch des aus Lymphdrüsen dargestellten Körpers, verwendet wurden.

Beide Lösungen sind, frisch dargestellt, schwach opalisirend. Diese Opalescenz beginnt in der Lösung des Lymphdrüsencytoglobin bei ca. 50° C. deutlicher zu werden und verstärkt sich bei weiterer Erhöhung der Temperatur, bis die Flüssigkeit bei 70° C. undurchsichtig wird. Beim Abnehmen einer Probe der Lösung und Verdünnen derselben mit Wasser erweist sich jedoch, dass eine Gerinnung noch nicht eingetreten ist, sondern dass die Undurchsichtigkeit lediglich durch sehr starke Opalescenz hervorgerufen wurde. Bei 85° C. zeigen sich feine Flocken, die beim Aufkochen etwas reichlicher werden; vollständige Gerinnung tritt jedoch erst beim Kochen nach Zusatz von ClNa ein.

Das Lebercytoglobin zeigt eine kleine Abweichung darin, dass die Lösung desselben gegen höhere Temperaturen etwas resistenter ist. Zwischen 55° und 60° C. beginnt die deutlichere Opalescenz und wird bei weiterem Erhitzen ebenfalls langsam stärker, ohne dass sich aber Flocken ausscheiden, die selbst beim Kochen nicht beobachtet werden. In der mit ClNa versetzten und gekochten Lösung tritt die Gerinnung allerdings auch vollständig ein.

In der Aschenanalyse des Cytoglobin, wie Demme sie giebt, vermisste ich eine Angabe darüber, ob auch Eisen vorhanden wäre, was ich voraussetzen konnte, da sich der gewöhnliche Begleiter des Eisens, Mangan, nachweisen liess. Meine Voraussetzung bestätigte sich: in der in HCl gelösten Asche trat auf Zusatz von Rhodankalium intensive Rothfärbung auf.

Schliesslich möchte ich noch auf einen augenscheinlichen Fehler aufmerksam machen, der sich bei den Demme'schen Stickstoffbestimmungen eingeschlichen hat. Er findet im Cytoglobin und seinen Spaltungsproducten folgenden Stickstoffgehalt:

Im Cytoglobin: 16,66 %.

In dem in Wasser unlöslichen eiweissartigen Spaltungsproduct: 23,87 % [1]).

In dem in Wasser löslichen Spaltungsproduct: 24,12 %.

Das Verhältniss der beiden Zersetzungsproducte zu einander ist nach Demme wie 59,928 zu 41,072, oder rund wie 60 zu 40, wobei die grössere Zahl das Präglobulin vorstellt.

Nun ergiebt bei diesem Verhältniss eine einfache Rechnung, dass, wenn der Stickstoffgehalt des Cytoglobin mit 16 % und der des Präglobulin mit 23 % richtig ist, für das lösliche Spaltungsproduct höchstens ein Stickstoffgehalt von 7 % nachbleiben kann, während Demme einen solchen von 24 % angiebt.

Um diesen Fehler corrigieren zu können, bestimmte ich meinerseits in zwei Versuchen zunächst das Verhältniss der beiden Zersetzungsproducte des Cytoglobin zu einander. Zu diesem Behufe wurde eine gewogene Menge lufttrockenes Cytoglobin in ca. 100 Th. Wasser gelöst, von dieser Lösung ein Theil abgenommen, gewogen und eingedampft. Der Rückstand wurde bis zur Gewichtsconstanz bei 100° getrocknet und gewogen. Hiernach wurde der Cytoglobingehalt des Restes der

1) A. Schmidt hat in seiner vorläufigen Mittheilung „Ueber den flüssigen Zustand des Blutes im Organismus", Centralblatt für Physiologie 1890. Bd. IV, Nr. 9, diesen Körper Präglobulin genannt, welchen Namen ich beibehalten werde.

Lösung, der gleichfalls gewogen wurde, berechnet, die Zersetzung durch einige Tropfen concentrirter Essigsäure bewirkt und die Zusammenballung und Senkung des, durch die Zersetzung entstandenen, Präglobulin abgewartet. Dieses wurde auf einem gewogenen Filtrum gesammelt, mit schwach essigsaurem Wasser gut gewaschen, bis zur Gewichtsconstanz getrocknet und gewogen. Das Gewicht des in Wasser löslichen Spaltungsproductes wurde aus der Differenz berechnet. Die Resultate finden sich in der nachfolgenden Tabelle:

Zersetzungsproducte.	Versuch I.	Versuch II.	Mittel.
Präglobulin	57,5	56,4	56,95
In Lösung gebliebenes Spaltungsproduct. .	42,5	43,6	43,05
	100,0	100,0	100,00

In runden Zahlen ausgedrückt, ist mein Mittel für das Präglobulin 57 % und Demme's 59 % des Cytoglobin.

Die Stickstoffanalyse des aus Lymphdrüsen gewonnenen Cytoglobin, die ich in derselben Weise, wie meine übrigen Stickstoffbestimmungen nach der weiter unten angegebenen Methode machte, ergaben:

I. 0,1872 wasser- und aschenfreie Substanz = 0,03024 N = 16,15 %.

II. 0,1850 wasser- und aschenfreie Substanz = 0,02996 N = 16,19 %.

Im Mittel = 16,17 % N.

Diese Zahl stimmt mit der Demme'schen, welche im Mittel 16,66 % beträgt, einigermaassen gut überein.

Nun zersetzte ich eine wässrige Cytoglobinlösung mit einigen Tropfen Essigsäure, filtrirte den sich bildenden Niederschlag ab und bestimmte auch in dieser Substanz den Stickstoffgehalt:

I. 0,1461 wasser- und aschenfreie Substanz = 0,02478 N = 16,96 %.

II. 0,1659 wasser- und aschenfreie Substanz = 0,02814 N = 16,96 %.

Im Mittel = 16,96 % N.

Auf Grund meiner obigen Bestimmung des Verhältnisses der beiden Spaltungsproducte des Cytoglobin zu einander lässt sich nun berechnen, dass das in Wasser lösliche Product höchstens 15,12 % Stickstoff enthalten kann; diese Zahl stimmt mit dem Stickstoffprocent der Eiweissstoffe überein, mit welchem der fragliche Körper, wie schon Demme gezeigt hat, im Uebrigen nichts gemein hat.

Meine, später anzuführenden, gut übereinstimmenden Zahlen versichern mich dessen, dass ein erheblicher Fehler in meinen Stickstoffbestimmungen nicht vorliegt; ich kann mir die Demme'schen zu grossen Werthe für den Stickstoffgehalt der Spaltungsproducte des Cytoglobin nur so erklären, dass er sich für letztere Bestimmungen die Arnold'sche Mischung, mit der er die Verbrennungsröhre beschickte, neu dargestellt hat und durch Zufall Stickstoff-haltige Stubstanz mit hineingekommen war.

Das in Wasser lösliche Zersetzungsproduct, welches nach der Angabe Demme's beim Eindampfen einen ausserordentlich hygroscopischen, neben Stickstoff auch Schwefel und Phosphor enthaltenden Rückstand zurücklässt, versetzte ich, nachdem ich die wässrige Lösung

im Vacuum über Schwefelsäure auf ein kleines Volumen concentrirt hatte, mit der zehnfachen Menge absoluten Alcohol. Es entstand eine schneeweisse Fällung. Ich filtrirte und dampfte das Filtrat ein, wobei eine bräunliche, schwach alcalisch reagirende, in Wasser leicht lösliche Masse nachblieb. Während des Eindampfens löst sie sich in Alcohol leicht wieder auf, nach 24stündigem Stehen verliert sie jedoch ihre Löslichkeit in Alcohol fast ganz. In Aether ist sie unlöslich. Qualitativ konnte ich in ihr Stickstoff, Schwefel, Phosphor und Eisen nachweisen.

Der Filterrückstand bildet, mit Alcohol und Aether getrocknet, eine schneeweisse, in Wasser leicht lösliche und in Lösung neutral reagirende Masse, die natürlich keine Eiweissreactionen gab, in welcher ich aber ebenfalls Stickstoff, Schwefel, Phosphor und Eisen fand.

Das durch Zersetzen mittelst Essigsäure erzeugte, in Wasser lösliche Spaltungsproduct des Cytoglobin wurde also durch Alcohol noch einmal gespalten in zwei Stoffe, welche beide N, S, P und Fe enthalten; die Hygroscopicität des Mutterstoffes besitzt der durch den Alcohol gefällte Körper nicht, über das andere Spaltungsproduct kann ich in dieser Hinsicht keine Angabe machen, da ich meinen Vorrath sogleich zur qualitativen Untersuchung verwandte.

Ich wende mich nun zu dem unlöslichen Zellenbestandtheil, den man aus Lymphdrüsen- und Leberzellen als Rest erhält, wenn die in Alcohol löslichen Stoffe extrahirt sind und durch Wasser das Cytoglobin entfernt worden ist.

Dass man diesen, oder wenigstens einen sehr ähnlichen Körper auch aus anderen, als den genannten Zellen darstellen kann, unterliegt keinem Zweifel.

Vorausschicken will ich, dass ich diesen Körper, den Alex. Schmidt „Cytin“ genannt hat, deshalb einen unlöslichen nenne, weil er ohne Zersetzung auf keine Weise in Lösung gebracht werden kann.

I. Darstellungsmethode.

Genau in derselben Weise, wie Demme es angegeben hat, wurden mesenteriale Lymphdrüsen vom Rinde gesammelt, vom anhaftenden Fett befreit, zerkleinert, mit $^1/_8$ Volumen Wasser gemengt, um das Auspressen zu erleichtern, und die Masse, in ein grobes Leintuch gethan, einem starken Drucke ausgesetzt. Der ausfliessende Saft wurde centrifugirt, das Serum vom Bodensatz abgegossen, letzterer in das zehnfache Volumen Alcohol von 96° gebracht und durch Schütteln darin vertheilt. Der Alcohol wurde, in Zwischenräumen von 3 Tagen, 3—4 mal erneuert. Auf diese Weise gelang es, die in Alcohol löslichen Stoffe zu extrahiren, so dass eine Probe desselben beim Eindampfen keinen Rückstand mehr hinterliess. Die auf diese Weise behandelte Zellenmasse wurde durch Abfiltriren vom Alcohol befreit, einige Mal mit absolutem Alcohol und dann mit Aether durchgewaschen und der Aether durch Auspressen entfernt.

In kleinen Partieen zu je 1,5 Grm. habe ich nun die trockene Masse mit dem 30 fachen Volumen Wasser gründlich verrieben und 24 Stunden stehen lassen; es wird dadurch fast alles Cytoglobin gelöst. Nach Ent-

fernung desselben durch Filtriren habe ich solange mit Wasser nachgewaschen, bis beim Kochen mit schwefelsaurem Natron und Essigsäure keine Spur einer Trübung im Filtrat entstand. War auf diese Weise alles Cytoglobin entfernt, so wusch ich den Filterrückstand mit ClNa-lösung von 10% gründlich aus, um den auch von Demme erwähnten Globulin-artigen Körper zu entfernen, bis auch hier das Filtrat, mit Essigsäure gekocht, sich nicht mehr trübte, und schliesslich befreite ich die auf dem Filter gebliebene Masse durch anhaltendes Waschen mit Wasser vollständig vom ClNa, wobei mir eine Lösung von Arg. nitr. noch die letzten Spuren desselben angab.

Durch starken Alcohol entzog ich der Masse das Wasser und brachte sie dann in absoluten Alcohol, in welchem ich sie, immer von Zeit zu Zeit umschüttelnd, einige Tage stehen liess. Der hierauf filtrirte und abgedampfte Alcohol hinterliess noch einen, wenn auch nur spurenhaften Rückstand, der erst nach 2—3 maliger Erneuerung des Alcohol ganz verschwand. Untersucht habe ich diesen Rückstand nicht, jedenfalls lassen sich die in Alcohol löslichen Zellenbestandtheile mit der ersten Extraction, trotz der grossen hierbei angewendeten Alcoholmengen, nicht ganz ausziehen.

Nachdem so auch noch die letzten in Alcohol löslichen Bestandtheile entfernt waren, wusch ich den Filterrückstand mit Aether einige Mal durch und erhielt nach Verdampfen desselben eine graubraune, leicht abhebbare, im Mörser zu einem feinen Pulver verreibbare Substanz — das Cytin.

Die nöthige Menge Lebercytin erhielt ich fertig dargestellt als gelbliches Pulver durch die Liebenswürdigkeit Prof. A. Schmidt's.

Uebrigens unterscheidet sich die Darstellungsweise desselben in keiner Hinsicht von der des Lymphdrüsencytin, nur dass das mit dem Hornspatel abgeschabte Parenchym der zerschnittenen Leber, nachdem es durch ein Tuch gepresst und der Zellenbrei, der sich an der anderen Seite des Tuches ansetzt, abgenommen worden, nicht erst auf die Centrifuge gebracht, sondern direct unter Alcohol gesetzt wird. Die weitere Behandlung ist genau dieselbe, wie die der Lymphdrüsenzellen.

II. Eigenschaften des Cytin.

1. Das Cytin ist unlöslich in Wasser, Alcohol und Aether, schwer löslich in grossen Mengen kalter, leicht löslich in kochender Natronlauge.

Aus der braunrothen alcalischen Lösung wird nach dem Erkalten derselben durch Neutralisiren mit Essigsäure ein Eiweisskörper gefällt. Die Fällung ist indessen erst vollständig bei mässigem Ansäuern. Der abfiltrirte und mit Wasser gut ausgewaschene Niederschlag löst sich in Natronlauge, selbst in verdünnter, leicht auf, ist aber unlöslich in Kochsalzlösung und Essigsäure. Der aus der alcalischen Lösung dieses Rückstandes, durch Neutralisiren mit Essigsäure abermals gefällte Körper löst sich nun verhältnissmässig leicht im Ueberschuss von Essigsäure auf. In Kochsalzlösung bleibt er unlöslich.

Nach dem Abfiltriren des aus der alcalischen Cytinlösung durch Uebersättigen mit Essigsäure gewonnenen Niederschlages lässt sich durch Eindampfen des

Filtrats ein in Wasser leicht löslicher Körper darstellen, der sich schon beim Stehen an der Luft als äusserst hygroscopisch erweist. Er giebt keine Eiweissreactionen. Qualitativ liessen sich in demselben Stickstoff, Phosphor, Schwefel und Eisen nachweisen. Diese in Wasser gelöste Substanz wird, mit rauchender Salpetersäure eingedampft, nicht roth oder braun, und färbt sich auf Zusatz von Ammoniak gelb, ein Beweis, dass es sich nicht um einen dem Xanthin, Harnsäure etc. ähnlichen Körper handelt.

Um das Verhältniss des durch Essigsäure aus alcalischer Lösung gefällten Eiweisskörpers zu unzersetztem Cytin zu bestimmen, wurde eine gewogene Menge Cytin in Wasser suspendirt und mit einigen Tropfen NaOH gekocht. Die braunrothe Lösung, in welcher stets eine kleine, schwärzliche, schleimige Masse ungelöst zurückbleibt, wurde am folgenden Tage filtrirt, das Filtrum, um jeden Verlust an der Lösung zu vermeiden, mit Wasser gut nachgewaschen und das Filtrat mit Essigsäure schwach angesäuert.

Nach 24 Stunden hatte sich ein Niederschlag abgesetzt, die darüber stehende Flüssigkeit gab aber bei nochmaligem Zusetzen von einigen Tropfen Essigsäure eine weitere Ausscheidung, die sich bald absetzte, worauf die Flüssigkeit klar und farblos erschien und bei Zusatz von Essigsäure nicht mehr getrübt wurde. Der Niederschlag wurde auf einem gewogenen Filtrum gesammelt, mit Wasser, Alcohol und Aether ausgewaschen, getrocknet und gewogen. Es stellte sich heraus, dass 67,51% des durch NaOH zersetzten Cytin durch Essigsäure gefällt worden war; den Rest von 32,49% bildete also jenes hygroscopische Spaltungsproduct des Cytin.

2. Concentrirte Essigsäure wirkt zersetzend auf Cytin ein, wobei aber der grössere Theil der Substanz ungelöst bleibt. Die abfiltrirte, wasserklare Flüssigkeit scheidet beim Neutralisiren mit NaOH eine geringe Menge eines Eiweisskörpers aus, der einen schneeweissen Niederschlag bildet. Der mit Wasser gut ausgewaschene Körper löst sich in verdünnter Natronlauge und Essigsäure, bleibt aber ungelöst in concentrirter Kochsalzlösung. Beim Kochen mit schwefelsaurem Natron, sowie auf Zusatz von Ferrocyankalium giebt die essigsaure Lösung einen Niederschlag.

3. Wird lufttrockenes Cytin, bis 100° erhitzt, mit reichlich Wasser einige Tage stehen gelassen, so bleibt nach Filtriren und Eindampfen des Filtrats ein sehr geringer in Alcohol und Aether unlöslicher Rückstand.

4. Wird Lymphdrüsencytin, mit Wasser gekocht, erkalten gelassen, abfiltrirt und das gelblich gefärbte Filtrat eingedampft, so bleibt ein geringer bräunlicher, schwach sauer reagirender Rückstand nach, der in Alcohol und Aether unlöslich ist. Das Lebercytin giebt, ebenso behandelt, denselben Rückstand, nur ist er hier farblos und in noch geringerer Menge vorhanden.

5. Cytin wirkt energisch zersetzend auf Wasserstoffsuperoxyd und zwar Lebercytin bedeutend energischer, als das aus Lymphdrüsen dargestellte. Durch Kochen mit Wasser wird dem Cytin diese Eigenschaft genommen, ebenso durch Zusatz von concentrirter Natronlauge, Essigsäure und Salzsäure. Kochsalzlösung stört die zersetzende Wirkung des Cytin nicht. Nach Neutralisiren der mit Natronlauge oder Säure behandelten Substanz tritt die Wirkung auf Wasserstoffsuperoxyd nicht wieder auf.

Das Cytin wirkt auf H_2O_2 durch blossen Contakt, wie das Platin, ohne etwas von seiner Substanz resp. seiner Wirksamkeit dabei zu verlieren. In einem ad hoc angestellten Versuch wurde mit einem gegebenen Quantum Lebercytin die Zersetzung von H_2O_2 siebenzehn Mal nach einander ausgeführt, ohne dass eine Abnahme seiner Wirksamkeit constatirt wurde. Hierbei wurde jedesmal die Senkung des Cytin nach stattgehabter Katalyse des H_2O_2 abgewartet, die Flüssigkeit abgegossen und dann von Neuem H_2O_2 hinzugefügt.

6. Mit Salzsäure von 0,15%—0,2% HCl-gehalt 24 Stunden lang digerirt, spaltet Cytin etwas Acidalbumin ab, das sich in der Flüssigkeit löst, und zwar Lymphdrüsencytin mehr, als das aus Leberzellen dargestellte; ist Pepsin zugegen, so wird das abgespaltene Acidalbumin verdaut. Es handelt sich aber nur um einen höchst geringen Bruchtheil des dem Versuch unterworfenen Cytin, da die geringe Säuremenge nicht genügt, um alles Cytin zu zersetzen. Die Flüssigkeit nimmt bei dieser Gelegenheit die den verschiedenen Cytinarten entsprechende Farbe an.

Fasse ich das bisher über das Cytin gesagte kurz zusammen, so kann ich diesen Körper folgendermaassen charakterisiren:

Das Cytin ist ein, das Wasserstoffsuperoxyd zersetzender Zellenbestandtheil, der, durch conc. Alcalien oder Säuren zersetzt, neben Eiweiss ein N, S, P und Fe enthaltendes Spaltungsproduct liefert.

Es fragt sich nun, ob die Lymphdrüsen- und Leberzellen Eiweissstoffe enthalten.

Die Mittel, mit welchen sie zerlegt wurden, sind: Alcohol, Wasser und Kochsalzlösung von 10%. Was dann übrig bleibt, ist das Cytin. Die in Alcohol löslichen Stoffe fallen nun zunächst selbstverständlich aus der Betrachtung aus, das Cytoglobin und das Cytin aber sind Stoffe viel complicirterer Art, als die Eiweisskörper. Das Cytoglobin wird durch Alcohol nicht coagulirt, dieses sowohl wie das Cytin zersetzen energisch H_2O_2, was kein gereinigter Eiweisskörper thut, beide liefern erst bei ihrer Zersetzung, wie das Hämoglobin einen Eiweissstoff. Es bleibt also nur der in Kochsalz lösliche Zellenbestandtheil übrig, der zunächst für einen globulinartigen Körper gehalten werden könnte. Ich habe mich nicht genauer mit ihm beschäftigt, schon weil er nur in Spuren vorkam, aber sollte er wirklich einen Eiweissstoff darstellen, so wäre es doch auffallend, dass er seine Löslichkeit in Kochsalzlösung beibehalten konnte, trotzdem die Zellen 10—12 Tage unter Alcohol gelegen hatten. Eine Globulinlösung wird zwar, wenn sie nicht genau neutral, sondern auch nur spurenhaft alcalisch reagirt, durch Alcohol nicht coagulirt, wie A. Schmidt früher demonstrirt hat, aber sie wird sofort durch Alcohol coagulirt, sobald sie auch nur sehr wenig Salze enthält. An Salzen aber, sollte man meinen, fehlt es den unter Alcohol gebrachten Zellen nicht.

Man könnte nun einwenden, dass das, ursprünglich in den Zellen vorhandene, Eiweiss durch den Alcohol coagulirt worden sei und dass danach das Cytin nur ein Gemenge von coagulirtem Zelleneiweiss und von anderen unbekannten unlöslichen Zellenbestandtheilen darstelle. Dann hätte aber der Verdauungsversuch ein greifbareres Resultat geben müssen. Indess, um diesem

Einwande auch noch von einer anderen Seite zu begegnen, beschloss ich in den Zellen direct, ohne sie vorher mit Alcohol zu behandeln, nach Eiweiss zu suchen.

Zu diesem Zwecke wurde eine Portion ausgepressten Lymphdrüsensafts centrifugirt, das Serum von den Zellen getrennt und zunächst untersucht.

Durch tropfenweises Zusetzen von Essigsäure wurde alles Cytoglobin, welches im Lymphdrüsenserum in grösserer Menge enthalten ist (nach einem Versuch von Demme 17% des Gesammtrückstandes) zersetzt. Der sich bildende Niederschlag (Präglobulin) wurde nach 24 Stunden abfiltrirt und das Filtrat auf Eiweiss untersucht. Die mit Essigsäure versetzte Flüssigkeit gab beim Kochen mit schwefelsaurem Natron sowohl, als bei Zusatz von Ferrocyankalium Niederschläge; auch die Xanthoproteinreaction gab ein positives Resultat. Beim Neutralisiren aber trübte sich diese Flüssigkeit nicht; sie enthielt also kein Globulin, sondern einen albuminartigen Körper.

Der Eiweissgehalt der Flüssigkeit wurde nach der Methode von J. Puls bestimmt durch Kochen mit starkem Alcohol, Filtriren durch ein gewogenes Filtrum, anhaltendes Auswaschen mit Alcohol von 73°, bis alle Salze entfernt waren, Trocknen und Wägen; er fand sich zu 0,90% des Serum.

Das Lymphdrüsenserum enthielt also jedenfalls Eiweiss, wenn auch nicht viel. Es fragte sich nun weiter, wie es in dieser Hinsicht mit den Zellen bestellt sei.

Ein Theil des zelligen Niederschlages wurde mit dem 7fachen Volumen Kochsalzlösung von 10% mehrere Stunden lang extrahirt, wobei er schleimig wurde, dann erst durch Leinwand geseiht, wobei der grösste Theil der

Schleimmasse zurückblieb und dann durch Papier filtrirt, was sehr gut von Statten ging und ein ganz flüssiges Filtrat gab. In diesem Filtrat entstand weder durch Sättigung mit Kochsalz in Substanz, noch durch Verdünnen mit Wasser (auch nicht mit kohlensäurehaltigem Wasser), eine Fällung, also hatte die Kochsalzlösung den Zellen keinen globulinartigen Stoff extrahirt, und jener Körper, der erst nach Entfernung der in Alcohol und in Wasser löslichen Zellenbestandtheile durch Kochsalzlösung extrahirt wird, scheint erst durch die Einwirkung des Alcohol in der Zelle entstanden zu sein.

Eine andere Portion des Zellenniederschlages wurde einfach mit dem 7fachen Volumen Wasser 24 Stunden lang extrahirt, dann filtrirt, das Cytoglobin im Filtrat durch Essigsäure zersetzt, wieder filtrirt und dieses Filtrat mit den gewöhnlichen Eiweissreactionen untersucht: es fanden sich Eiweissspuren, die jedenfalls dem den Zellen doch immer noch anhaftenden Lymphdrüsenserum angehörten.

Danach glaube ich von den thierischen Zellen, jedenfalls von den Leber- und Lymphdrüsenzellen sagen zu dürfen, dass sie entweder gar kein, oder doch nur Spuren von fertig gebildetem Eiweiss enthalten. Was man hier für Eiweiss genommen hat, ist Zersetzungsproduct höher zusammengesetzter Verbindungen, namentlich des Cytoglobin und des Cytin gewesen, welche die Hauptbestandtheile der Zellen bilden.

Dies schliesst nicht aus, dass gewisse Zellenarten Eiweiss als specifische Bestandtheile enthalten, resp. bilden, wie die Leberzelle die Gallensäuren enthält, aber sie sind nicht wesentliche, zum Begriff des thierischen Protoplasma gehörende, Bestandtheile desselben.

III. Elementaranalyse.

A. Lymphdrüsencytin.

Bevor ich an die Analyse der Substanz ging, bestimmte ich in 2 Proben der, längere Zeit über Schwefelsäure und Chlorcalcium aufbewahrten, Substanz den Feuchtigkeitsgehalt derselben durch Trocknen bei 90° bis 100° bis zur Gewichtsconstanz. Der Gewichtsverlust betrug im Mittel 5,46 %.

Das Mittel aus 2 Aschenbestimmungen ergab 1,85 % Aschengehalt. Qualitativ konnte ich in der Asche Phosphor, Schwefel, Eisen, Kieselsäure und Calcium nachweisen.

Alle Zahlenangaben meiner Analysen sind auf wasser- und aschenfreie Substanz berechnet.

Bestimmung des Stickstoffs.

Die Analyse wurde nach der Arnold'schen Modification der Vill-Varrentrap'schen Methode gemacht. Vorgelegt habe ich $^1/_5$ normal Schwefelsäure, zum Zurücktitriren diente mir $^1/_5$ normal Natronlauge. Indicator Lakmustinctur.

I. 0,2312 verbrauchte 11,6 Ccm. $^1/_5$ n. H_2SO_4 = 0,03248 N = 14,05 %.

II. 0,1703 verbrauchte 8,9 Ccm. $^1/_5$ n. H_2SO_4 = 0,02492 N = 14,63 %.

III. 0,2253 verbrauchte 11,5 Ccm. $^1/_5$ n. H_2SO_4 = 0,03220 N = 14,34 %.

IV. 0,1857 verbrauchte 9,6 Ccm. $^1/_5$ n. H_2SO_4 = 0,02688 N = 14,47 %.

V. 0,2280 verbrauchte 12,0 Ccm. $^1/_5$ n. H_2SO_4 = 0,03360 N = 14,74 %.

Im Mittel: **14,45 %** Stickstoff.

Bei einem so wichtigen Elemente, wie dem Stickstoff, schien es mir geboten, das Mittel aus möglichst vielen Bestimmungen zu nehmen, weshalb ich hier einige Analysen mehr gemacht habe, als bei der Bestimmung der anderen Elemente.

Bestimmung des Wasserstoffs und Kohlenstoffs.

Die Substanz wurde bei vorgelegten blanken Kupferspähnen mit einer Mischung von chromsaurem Blei und chromsaurem Kali (10 : 1) verbrannt und das gebildete Wasser von Chlorcalcium, die Kohlensäure von Kalilauge absorbirt.

a. Wasserstoff.

I. 0,2143 gab 0,1398 H_2O = 0,0155 H = 7,28 %.
II. 0,2396 gab 0,1520 H_2O = 0,0169 H = 7,05 %.
III. 0,2834 gab 0,2004 H_2O = 0,0223 H = 7,87 %.

Im Mittel: **7,40 %** Wasserstoff.

b. Kohlenstoff.

I. 0,2396 gab 0,4616 CO_2 = 0,1259 C = 52,55 %.
II. 0,2834 gab 0,5214 CO_2 = 0,1424 C = 50,25 %.

Im Mittel: **51,4 %** Kohlenstoff.

Die dritte Kohlenstoffbestimmung gab durch einen Versuchsfehler unbrauchbare Resultate.

Bestimmung des Schwefels und Phosphors.

Die Substanz habe ich mit Kalium nitricum und Natron carbonicum geschmolzen, die Schmelze in heissem Wasser gelöst, filtrirt, mit Salzsäure angesäuert

und durch Chlorbaryum den Schwefel als schwefelsauren Baryt gefällt.

Das Filtrat wurde mit conc. Salpetersäure und darauf mit Ammoniummolybdänat versetzt, der in 24 Stunden sich bildende gelbe Niederschlag in Ammoniak gelöst, der Phosphor durch Zusatz von Chlorammonium und Magnesiumsulfat als phosphorsaure Ammoniakmagnesia gefällt und durch Glühen in pyrophosphorsaure Magnesia übergeführt. Alle angewandten Reagentien waren schwefel- und phosphorfrei, auch benutzte ich beim Filtriren nur aschefreie Filtra.

a. Schwefel.

I. 0,1936 gab 0,0432 $BaSO_4$ = 0,005933047 S = 3,06 %.
II. 0,1679 gab 0,0390 $BaSO_4$ = 0.005356223 S = 3,19 %.
III. 0,1772 gab 0,0477 $BaSO_4$ = 0,006551073 S = 3,70 %.
Im Mittel: **3,32** % Schwefel.

b. Phosphor.

I. 0,1936 gab 0,0033 $Mg_2P_2O_7$ = 0,000921624 P = 0,48 %.
II. 0,1679 gab 0,0030 $Mg_2P_2O_7$ = 0,00083784 P = 0,50 %.
III. 0,1772 gab 0,0024 $Mg_2P_2O_7$ = 0,000670272 P = 0,38 %.
Im Mittel: **0,45** % Phosphor.

Bestimmung des Eisens.

Die zu untersuchende Substanzmenge wurde mit etwas Natrium carbonicum verkohlt, die Kohle mit Wasser ausgelaugt und dann verascht, die Asche mit Salzsäure aufgenommen, eingedampft, und in Schwefelsäure gelöst; durch metallisches Zink wurde das schwefelsaure Eisenoxyd zu schwefelsaurem Eisenoxydul reducirt. Dieses reducirte nun seinerseits eine Chamäleonlösung, von der 1 Ccm. einem Eisengehalte von 0,000316 Grm. entsprach.

Die zur Verwendung gekommenen Reagentien waren eisenfrei.

I. 0,5554 reducirte 3,3 Ccm. Chamäleonlösung = 0,0010428 Fe = 0,19 %.

II. 0,6040 reducirte 2,9 Ccm. Chamäleonlösung = 0,0009164 Fe = 0,15 %.

III. 0,5641 reducirte 3,2 Ccm. Chamäleonlösung = 0,0010112 Fe = 0,18 %.

Im Mittel: **0,17 %**.

B. Lebercytin.

Der Feuchtigkeitsverlust der auch über Schwefelsäure und Chlorcalcium aufbewahrten Substanz betrug beim Trocknen bei 90°—100° bis zur Gewichtsconstanz 2,39 % im Mittel. Zwei Aschenbestimmungen ergaben einen Mittelwerth von 0,73 %. Die Aschenbestandtheile betreffend zeigte sich kein Unterschied zum Lymphdrüsencytin.

Der geringen mir zur Verfügung stehenden Menge wegen konnte ich bei einigen Bestimmungen nur zwei Parallelversuche machen, im Uebrigen wurden die Analysen genau in derselben Weise ausgeführt, wie mit dem Lymphdrüsencytin.

Bestimmung des Stickstoffs.

I. 0,2161 verbrauchte 11,4 $^1/_5$ n. H_2SO_4 = 0,03192 N = 14,77 %.

II. 0,2001 verbrauchte 10,4 $^1/_5$ n. H_2SO_4 = 0,02912 N = 14,55 %.

Im Mittel **14,66 %** Stickstoff.

Bestimmung des Wasser- und Kohlenstoffs.

a. Wasserstoff.

I. 0,2084 gab 0,1393 H_2O = 0,0155 H = 7,44 %.
II. 0,1857 gab 0,1124 H_2O = 0,0125 H = 6,73 %.
III. 0,2354 gab 0,1501 H_2O = 0,0167 H = 7,09 %.

Im Mittel **7,09** % Wasserstoff.

b. Kohlenstoff.

I. 0,2084 gab 0,4125 CO_2 = 0,1125 C = 53,98 %.
II. 0,2354 gab 0,4836 CO_2 = 0,1319 C = 56,03 %.

Im Mittel **55,01** Kohlenstoff.

Auch hier ging mir eine Bestimmung durch Versuchsfehler verloren.

Bestimmung des Schwefels und Phosphors.

a. Schwefel.

I. 0,1808 gab 0,0521 $BaSO_4$ = 0,007155365 S = 3,96 %.
II. 0,2164 gab 0,0552 $BaSO_4$ = 0,007581116 S = 3,50 %.
III. 0,1775 gab 0,0456 $BaSO_4$ = 0,006262661 S = 3,53 %.

Im Mittel **3,66** % Schwefel.

b. Phosphor.

I. 0,2164 gab 0,0053 $Mg_2P_2O_7$ = 0,001480184 P = 0,68 %.
II. 0,2265 gab 0,0073 $Mg_2P_2O_7$ = 0,002038744 P = 0,90 %.
III. 0,2129 gab 0,0050 $Mg_2P_2O_7$ = 0,001396396 P = 0,66 %.

Im Mittel: **0,75** % Phosphor.

Bestimmung des Eisens.

I. 0,5146 reducirte 3,8 Ccm. Chamäleonlösung = 0,0012008 Fe = 0,23 %.
II. 0,4927 reducirte 2,4 Ccm. Chamäleonlösung = 0,0007584 Fe = 0,15 %.

Im Mittel **0,19** % Eisen.

Vergleicht man die Resultate der Analyse des Lymphdrüsen- und Lebercytin, so zeigt es sich, dass die Zahlen im Allgemeinen gut übereinstimmen; nur an Schwefel und Phosphor ist das Lebercytin etwas reicher. Auch in Betreff der charakteristischen Eigenschaften beider Körper finden sich keine bedeutenden Differenzen, nur scheint, soviel ich nach meinen Untersuchungen urtheilen kann, das Lebercytin chemischen und thermischen Einflüssen gegenüber etwas resistenter zu sein, als das aus Lymphdrüsen dargestellte.

Beim Vergleich meiner für das Cytin gefundenen Zahlen mit den von Demme für das Cytoglobin bestimmten, springt der grosse Unterschied im Phosphorgehalt in die Augen.

Demme fand 10,30% Phosphorsäure = 4,50% Phosphor, ich dagegen beim Lymphdrüsencytin 0,45% P. und beim Lebercytin 0,75% P.

Dorpat, Physiologisches Institut 24. Januar 1891.

Thesen.

1. Medicinische Sensationsnachrichten sollten im Laienpublicum durch die Presse nicht verbreitet werden, solange die angeregten Fragen noch nicht spruchreif sind.
2. Bei veralteten Geschwüren, die wenig Tendenz zur Heilung zeigen, ist eine 10% ige Aristolsalbe zu versuchen.
3. Bei chronischer Obstipation leistet ein Glas Wasser, am Morgen auf nüchternen Magen getrunken, gute Dienste.
4. Häufige Harnuntersuchungen sind bei längerem innerlichen Gebrauch von Salol unerlässlich.
5. Aether sulfuricus als Mittel gegen pediculi pubis ist zu verwerfen.
6. Bei nervösem Vomitus matutinus sind morgendliche kalte Abreibungen zu versuchen.